

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA
CURSO ENGENHARIA DE AQUICULTURA

Daniele dos Santos

**Macroalga *Ulva ohnoi* cultivada em bioflocos: alterações na composição
nutricional**

Florianópolis

2023

Daniele dos Santos

**Macroalga *Ulva ohnoi* cultivada em bioflocos: alterações na composição
nutricional**

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Engenharia de Aquicultura do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Aquicultura.

Orientador: Prof. Dr. Walter Quadros Seiffert

Florianópolis

2023

Santos, Daniele

Macroalga *Ulva ohnoi* cultivada em bioflocos : alterações na composição nutricional / Daniele Santos ; orientador, Walter Seiffert, 2023.

29 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Graduação em Engenharia de Aquicultura, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Engenharia de Aquicultura. 2. Bioflocos. 3. *Ulva ohnoi*. 4. *Ulva*. I. Seiffert, Walter . II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Aquicultura. III. Título.

Daniele dos Santos

**Macroalga *Ulva ohnoi* cultivada em bioflocos: alterações na composição
nutricional**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de bacharel e aprovado em sua forma final pelo Curso de Engenharia de Aquicultura.

Local Florianópolis, 13 de junho de 2023.

Marcos C. P. de Albuquerque
Coordenação do Curso

Banca examinadora

Prof. Walter Quadros Seiffert, Dr
Orientador

Dr.(a) Jaqueline da Rosa Coelho
Universidade Federal de Santa Catarina

Me. Ramon Felipe Siqueira Carneiro,
Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023.

*Este trabalho é dedicado especialmente aos meus pais,
Terezinha e Leonildo.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, principalmente, a minha mãe Terezinha Aparecida Mota Macedo e meu pai Leonildo dos Santos, que sempre me colocaram em primeiro lugar me proporcionando a melhor educação que poderia ter. Agradeço por todo esforço que fizeram durante estes anos de graduação, onde pude me dedicar exclusivamente a UFSC, obrigada por todo apoio, conselhos e amparos. Sem vocês nada disso seria possível, amo vocês mais que tudo.

Agradeço as minhas primas Gislaine dos Santos Correia, Greici Luana dos Santos e Mary Elaine Alves Mota (*in memory*), meu namorado Vitor Fernandes e as minhas amigas de vida Paola Raquel e Roberta Schifini, por sempre estarem comigo nos momentos em que mais precisei.

A Camilla Miranda, minha dupla de todas as horas, obrigada por todos os momentos que compartilhamos juntas, por nunca ter soltado minha mão, desde os momentos de angústia e nervosismos até os mais felizes em nossas viagens. A graduação jamais teria sido a mesma sem você.

Agradeço as(os) amigas(os) de turma e de laboratório Marina, Jamilly, Isabela, Flávia, Claudinha, Jaque, Scheila e Ramon, obrigada por todas as risadas, ajuda e conhecimento compartilhado.

A toda equipe do LCM, em especial ao Carlos por sempre resolver os pepinos dos experimentos.

Agradeço ao Felipe do Nascimento Vieira, por ter me orientado durante os 4 anos em que fui bolsista de IC no LCM.

Ao Prof^o Walter Quadros Seiffert, por me orientar em diversas matérias ao longo da graduação e em especial neste trabalho.

E por fim a todos os colegas, professores e colaboradores da UFSC que fizeram parte desta etapa da minha vida.

RESUMO

A *Ulva ohnoi* é uma macroalga verde que faz parte do gênero *Ulva* (Linnaeus, 1753), é uma espécie exótica, considerada invasora e oportunista em diferentes regiões do mundo. A estrutura desta macroalga conta com proteínas, minerais, vitaminas, aminoácidos, ácidos graxos poli-insaturados e várias substâncias bioativas, entre elas pigmentos fotossintéticos e fenólicos. Os macronutrientes presentes neste gênero, vem ganhando destaque em diferentes indústrias, sendo estas: farmacêutica, cosmética e alimentícia, além disso também podem ser empregadas em biofertilizantes e em ração animal. Tendo isso em vista, é importante avaliar formas alternativas de cultivo para estas macroalgas e as possíveis alterações na sua estrutura após serem cultivadas em determinados sistemas. Com isso, este trabalho teve como objetivo avaliar possíveis alterações na composição nutricional da macroalga *Ulva ohnoi* cultivada na água do cultivo de camarões em sistema de bioflocos. O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos (LCM) pertencente à Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis — SC. Foram utilizadas três unidades de estudos, com volume útil de 40L. A água utilizada foi bombeada do tanque com sistema de bioflocos e as trocas da mesma foram realizadas diariamente (90% do volume utilizado). A densidade inicial das macroalgas foi de 6 g L⁻¹, e o experimento durou 28 dias. Parâmetros de salinidade, temperatura e iluminância foram monitorados diariamente. A biometria foi realizada uma vez por semana para avaliar o crescimento e em seguida realizado o ajuste da densidade para a inicial novamente. Ao final do experimento, o crescimento médio das algas foi de 1,15% dia⁻¹ (49,5 g semana⁻¹). O polissacarídeo ulvana apresentou aumento de 75% quando comparado ao valor inicial, do mesmo modo que a proteína aumentou 30,2%. Os compostos fenólicos e a clorofila não apresentaram diferenças significativas do início para o final do cultivo. Os carotenoides, por outro lado, reduziram 41,3%. Com base nestes resultados, concluiu-se que a macroalga *Ulva ohnoi* aumentou suas concentrações de ulvana e proteína após ser cultivada em sistema de bioflocos.

Palavras-chave: Bioflocos; *Ulva ohnoi*; Ulvana.

ABSTRACT

Ulva ohnoi is a green macroalgae that is part of the genus *Ulva* (Linnaeus, 1753), it is an exotic species, considered invasive and opportunistic in different regions of the world. The structure of this macroalgae has proteins, minerals, vitamins, amino acids, polyunsaturated fatty acids and various bioactive substances, including photosynthetic and phenolic pigments. The macronutrients present in this genus have been gaining prominence in different industries, namely: pharmaceutical, cosmetic and food, in addition they can also be used in biofertilizers and animal feed. With that in mind, it is important to evaluate alternative forms of cultivation for these macroalgae and possible changes in their structure after being cultivated in certain systems. With that, the objective of this work was to evaluate possible changes in the composition of the macroalgae *Ulva ohnoi* cultivated with water from the shrimp culture in biofloc system. The experiment was carried out at the Laboratory of Camarões Marinhos (LCM) belonging to the Federal University of Santa Catarina (UFSC), Florianópolis — SC. Three experimental units were used, with a useful volume of 40L. The water used was pumped from the tank with a biofloc system and water changes were performed daily (90% of the volume used). The initial density of the algae was 6 g L⁻¹, and the experiment lasted 28 days. Salinity, temperature and illuminance parameters were monitored daily. The biometrics were performed once a week, where the growth obtained was removed and the density was adjusted again to the initial one. At the end of the experiment, the average growth of algae obtained was 1.15% day⁻¹ (49.5 g week⁻¹). The ulvan showed an increase of 75% of the initial value, as well as the protein increased by 30.2%. The concentrations of phenolic compounds and chlorophyll did not show significant difference from the beginning to the end of the cultivation. Carotenoids, on the other hand, reduced by 41.3%. It was concluded that the macroalgae *Ulva ohnoi* increased its ulvan and protein concentrations after being cultivated in a biofloc system.

Keywords: Bioflocs; *Ulva ohnoi*; Ulvan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Rendimento da ulvana no início e no final do cultivo da *U. ohnoi* em sistema de bioflocos durante 28 dias. Os dados retratam a média \pm do intervalo de confiança (n= 3) e as letras minúsculas representam diferenças significativas no rendimento inicial e final ($p < 0,05$)..... 18

Figura 2 - Concentração proteica da *U. ohnoi* cultivada em sistema de bioflocos durante 28 dias. Os dados retratam a média \pm do intervalo de confiança (n = 3) e *** representam as diferenças significativas entre o dia 0 comparado aos dias posteriores ($p < 0,05$). 19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade de água do tanque matriz de bioflocos durante as 4 semanas de experimento.	14
Tabela 2 - Temperatura (°C), salinidade (‰), oxigênio dissolvido - OD (mg L ⁻¹) e lux: média, mínima (mín) e máxima (máx) do cultivo da <i>U. ohnoi</i> em sistema de bioflocos durante 28 dias.....	17
Tabela 3 - Biomassa produzida e crescimento semanal (% dia ⁻¹) da <i>U. ohnoi</i> cultivada em sistema de bioflocos durante 28 dias.	17
Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos, clorofila a, b e carotenoides da macroalga <i>U. ohnoi</i> cultivada por 28 dias em sistema de bioflocos.	18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	10
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	13
2.1	MACROALGAS.....	13
2.1.1	Delineamento e condições experimentais.....	13
2.1.2	Peso da macroalga	15
2.1.3	Extração e qualificação de clorofilas e carotenoides totais	15
2.1.4	Extração e quantificação de compostos fenólicos totais	15
2.1.5	Obtenção de ulvana	16
2.1.6	Quantificação de proteína	16
2.2	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	16
3	RESULTADOS	17
3.1	QUALIDADE DA ÁGUA	17
3.2	DESEMPENHO ALGAL E CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA.....	17
4	DISCUSSÃO.....	19
5	CONCLUSÃO	22
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

No documento “Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (SOFIA)” de 2022, consta que em 2020 a pesca e aquicultura bateram um recorde histórico em produção, totalizando 214 milhões de toneladas. Desta produção, aproximadamente 35 milhões de toneladas são de algas, as quais são destinadas para o consumo humano e extração de compostos (FAO, 2022).

As macroalgas podem ser encontradas em toda a plataforma continental e em diferentes regiões dos oceanos e mares. A existência desses organismos é crucial para a geração de oxigênio, ciclagem de nutrientes, refúgio, alimento para outros seres vivos e outros serviços ecossistêmicos em ambientes marinhos (MARINHO-SORIANO; CARNEIRO, 2021).

Dentre as macroalgas existentes está a *Ulva ohnoi* que faz parte do gênero *Ulva*, descrito por Linnaeus em 1753, pertence ao filo Chlorophyta, família Ulvaceae, classe Ulvophyceae e ordem Ulvales (KONG *et al.*, 2011). Devido à sua característica cor verde, que se assemelha ao verde das folhas das plantas terrestres, as espécies desse gênero são popularmente conhecidas por "algas verdes" (CORMACI *et al.*, 2014). O ciclo de vida deste gênero é curto, é caracterizado cosmopolita e, em sua maior parte, marinho. Ocorrem em regiões de entremarés em oceanos tropicais e subtropicais, podem ser encontrados em ambientes estuarinos e salobros em profundidades de até 10 metros, podendo ser livre-flutuante ou crescer em diferentes substratos (NEORI *et al.* 1991; MASAKIYO & SHIMADA 2014).

As macroalgas são consideradas uma fonte significativa de compostos bioativos naturais, em particular aqueles que têm qualidades antioxidantes (BOROWITZKA, 2013; MICHALAK & CHOJNACKA, 2015). Assim como em outras macroalgas verdes, proteínas, minerais, vitaminas, aminoácidos, ácidos graxos poli-insaturados e várias substâncias bioativas, entre elas pigmentos fotossintéticos e fenólicos, estão presentes na estrutura da *Ulva ohnoi* (ANGELL *et al.*, 2015).

Entre os polissacarídeos presentes na família Ulvaceae, está a ulvana que é considerada uma fonte interessante a ser pesquisada. A ulvana é fortemente ligada às proteínas e tem se mostrado benéfica para a imunidade dos organismos aquáticos (PESO-EHARRI *et al.*, 2012). A clorofila, do mesmo modo que para as demais plantas verdes, é o principal pigmento das algas deste gênero, sendo fundamental no processo de fotossíntese. Outros pigmentos que também estão presentes nas

macroalgas verdes são os carotenoides, que colaboram no processo de fotossíntese, auxiliando a evitar prováveis danos provocados pela luz (GUARATINI *et al.*, 2009).

A *Ulva ohnoi* possui alta tolerância térmica, resiliência fotossintética (ZANOLLA *et al.*, 2019; NAKAMURA *et al.*, 2020), quantidade de proteínas consideráveis, crescimento rápido (MAGNUSSON *et al.*, 2019), ação anti-inflamatória (KANG, *et al.* 2021) e competência fitorremediadora na absorção de nitrogênio total em resíduos de camarão (NHINH *et al.*, 2017). Tendo isso em vista, tornam-se atrativas comercialmente e são aplicáveis a uma variedade de indústrias, entre elas a alimentícia, farmacêutica e cosmética (SANTOS, 2017), também podendo ser empregadas em biofertilizantes e em ração animal (ZHANG *et al.*, 2012).

Estudos apontam que algumas macroalgas marinhas possuem alto teor de proteína, mostrando ótimo potencial para produção de concentrados protéicos ou para substituição parcial das farinhas de peixes em rações para aquicultura (SATO *et al.*, 1987; KUMAR *et al.*, 2014). Contudo, a forma como é cultivada pode afetar o crescimento e a eficiência de filtragem, visto que fatores como salinidade, temperatura, luz, concentração de nutriente, aeração, entre outros, afetam o desempenho da macroalga no sistema (CHOPIN *et al.*, 2001; BEN-ARI *et al.*, 2014).

Dentre os modelos de cultivo que a *Ulva ohnoi* tende a ser promissora, está a aquicultura multitrófica integrada – AMTI, que é um método de produção que combina espécies de vários níveis tróficos em um ambiente de cultivo, reciclando as sobras de uma espécie cultivada como alimento ou fertilizante para outra (CHOPIN *et al.*, 2001; LEGARDA, 2020).

A integração dessas culturas favorece a biorremediação de nutrientes em excesso (HOANG *et al.* 2016). Esses efeitos incluem aumento da produtividade, diminuição do impacto ambiental e diversificação econômica (IHSAN, 2012). Outro modelo que vêm crescendo constantemente é o cultivo em bioflocos – BFT. Esse sistema pode ser realizado de forma intensiva ou superintensiva, com baixa renovação da água e, quando comparado a outras maneiras de cultivo, é considerado mais biosseguro, além dos organismos cultivados poderem incrementar sua nutrição através do consumo dos flocos microbianos (WASIELESKY & KRUMMENAUER, 2013).

Uma forma de melhorar o processo de reciclagem destes seria a junção do sistema em BFT e os princípios da AMTI. No AMTI, as macroalgas verdes se mostram promissoras, já que possuem altas taxas de absorção de nutrientes, incluindo

nitrogênio nas formas de amônia, nitrito e nitrato, essenciais para seu desenvolvimento (TROELL *et al.*, 2003; TROELL *et al.*, 2009).

Estudos apontam que com o propósito de remover o nitrogênio inorgânico dissolvido dos efluentes dos tanques de peixes, algas marinhas, particularmente *Ulva* spp. e *Gracilaria* spp., têm sido utilizadas como biofiltros. (ABREU *et al.*, 2011; KANG *et al.*, 2011; ALHAFEDH *et al.*, 2015; SHPIGEL *et al.*, 2018).

Legarda *et al.* (2021) concluíram que no cultivo em AMTI com BFT, a alga verde *Ulva fasciata* aumentou a produtividade, retenção de nitrogênio e fósforo, bem como seu conteúdo nutricional e compostos antioxidantes. Pontes (2018), avaliou macroalgas marinhas como forma de biofiltro em cultivo multitrófico integrado e constatou que a *U. fasciata* apresentou alto índice de produtividade, remoção de amônia, teor de proteínas, carotenoides e perfil lipídico, o que indica seu potencial para uso em AMTI.

Martins *et al.* (2020) cultivaram com sucesso *U. ohnoi* e *U. fasciata* usando efluentes de bioflocos proveniente da carcinicultura como fertilizante, e as espécies mostraram sinais de crescimento saudável e absorção de nutrientes. Já Chagas (2021) verificou o possível uso da macroalga *Ulva* spp. integrada a carcinicultura em sistema de bioflocos e concluiu que *Ulva flexuosa* e *U. fasciata* apresentam boa eficiência de filtração e aumento da biomassa, mas não foram afetadas pelas características do meio (altas concentrações de sólidos, nitrato e fósforo).

Apesar dos estudos realizados com diversas espécies de macroalgas demonstrarem sua viabilidade na integração com o cultivo em bioflocos (CHIRAPART; LEWMANOMONT, 2004; PIRES, 2014; BRITO *et al.*, 2014), ainda não há estudos visando identificar diferenças na composição nutricional destas macroalgas neste sistema de cultivo. Portanto, o objetivo desse estudo foi caracterizar a composição nutricional da macroalga *Ulva ohnoi* cultivada em água do sistema de cultivo de camarões em bioflocos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MACROALGAS

A coleta das macroalgas foi realizada na lagoa de sedimentação do Laboratório de Moluscos Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LMM/UFSC), onde a água no instante da coleta estava com temperatura de 24°C e salinidade de 30‰. A biomassa recolhida foi levada para a Seção de Macroalgas do Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM/UFSC) em recipientes plásticos (20 L) com água da lagoa.

As epífitas e quaisquer detritos incrustados nas macroalgas foram retirados manualmente, seguido de lavagem com água salgada. Após esse processo, foi realizado a aclimação por um período de 2 dias, onde foram mantidas as macroalgas em um tanque circular de polietileno com 500L, com aeração e com temperatura inicial de 24 °C e salinidade de 32‰. A temperatura foi aumentada gradualmente através de um aquecedor HT-1900 de 300W até atingir 28 °C.

2.1.1 Delineamento e condições experimentais

O experimento foi realizado no Laboratório de Camarões Marinhos da Universidade Federal de Santa Catarina (LCM/UFSC), onde foram utilizadas três unidades experimentais, cada unidade consistia em uma caixa retangular de polipropileno branca com volume útil de 40 L (55x37x31 cm), cada caixa contava com um aquecedor HT-1900 de 100W, para manter a temperatura, e aeração central com tubos perfurados, para manter a água em movimento. O cultivo das macroalgas foi realizado na densidade inicial de 6 g L⁻¹ por um período de 28 dias.

A água utilizada durante o experimento foi fornecida pelo tanque de matriz de bioflocos do LCM/UFSC, que consiste em um tanque circular com capacidade de 40 m³, no qual 5.000 camarões da espécie *Penaeus vannamei* eram cultivados em bioflocos maduro, ou seja, com nitrificação já estabelecida, com aproximadamente 15g. Estes camarões eram alimentados 4 vezes ao dia com ração comercial (35% proteína bruta) a uma taxa de 3% de sua biomassa.

Foram realizadas análises de qualidade de água semanalmente no tanque matriz, os parâmetros se mantiveram estáveis e dentro dos níveis recomendados para o cultivo de camarões em bioflocos (Tabela 1) (VAN WYK & SCARPA, 1999).

No período do experimento foi realizada a troca da água do cultivo das macroalgas uma vez ao dia, no período da manhã, onde 90% do volume útil do tanque era renovado. Nesse processo, a água das unidades experimentais retornava para o tanque matriz por meio de gravidade e era repostada com água do mesmo tanque matriz com a assistência de uma bomba de aquário com um filtro de saco de poliéster de 25 µm, para reduzir a quantidade de sólidos. Essa bomba era ligada somente no momento de reposição da água das algas.

A iluminação foi natural dentro de uma estufa agrícola, com 70% de sombreamento. A biometria para verificar o crescimento das macroalgas foi realizada uma vez por semana com balança digital, onde antes da pesagem o excesso de água era removido por meio de centrífuga manual.

Para calcular a taxa de crescimento diário foi utilizada a equação GR (% dia⁻¹) = [(Bf/Bi) 1/t - 1] x 100, onde Bf (biomassa final), Bi (biomassa inicial) e t (tempo), conforme sugerido por Yong *et al.* (2013). Após as biometrias, apenas o crescimento semanal das macroalgas era retirado das unidades experimentais e armazenado em freezer para realizar as análises ao final do experimento, sendo assim a densidade de cultivo era ajustada para a inicial (6g L⁻¹). A composição centesimal das macroalgas foi realizada de acordo com os métodos descritos pela Association of Official Analytical Chemists – International AOAC (1999).

Tabela 1 - Parâmetros de qualidade de água do tanque matriz de bioflocos durante as 4 semanas de experimento.

Parâmetros	Semana			
	1	2	3	4
Nitrogênio amoniacal total – N (mg L⁻¹)	0,09	0,16	0,10	0,20
Nitrito (mg N-NO₂- L⁻¹)	0,08	0,10	0,08	0,19
Nitrato (mg N-NO₃- L⁻¹)	52,4	57,2	62,05	65,65
Ortofosfato dissolvido (mg P-PO₄³⁻ L⁻¹)	2,81	3,74	4,12	5,26
Sólidos suspensos totais (mg L⁻¹)	505,5	520	584,5	566,5
pH	7,74	7,72	7,64	7,69
Alcalinidade (mg L⁻¹)	181	196	185	184

2.1.2 Peso da macroalga

Para determinar o peso seco da *Ulva ohnoi*, foi utilizado 5g de amostra úmida a qual foi colocada em um béquer e pesada em balança analítica. Em seguida foi levada para uma estufa e seca por 24 horas em uma temperatura de 60 °C para retirar a água.

2.1.3 Extração e qualificação de clorofilas e carotenoides totais

As análises foram realizadas no Laboratório de Morfogênese e Bioquímica Vegetal da UFSC. Para realizar essas análises, foi adicionado em um tubo de ensaio 3g (peso fresco, n=3) de amostra de *U. ohnoi* em 3 ml de DMSO (dimetilsulfóxido) e mantido a 40 °C por 45 minutos conforme o protocolo sugerido por Hiscox & Israelstam (1979). Através de um espectrofotômetro (Bel Spectro LGS53), foram obtidos os valores das absorvâncias 480, 649 e 665 nm. Foram utilizadas as fórmulas de Wellburn (1994), sendo os dados expressos em $\mu\text{g mL}^{-1}$: [Clorofila a (Chl a) = $[12,19*(A665) - 3,45*(A649)]$ e clorofila b (Chl b) = $[21,99*(A649) - 5,32*(A665)]$. Para quantificação de carotenoides totais no extrato de DMSO, foi aplicada a fórmula CTs = $[1.000*(A480) - 2,14*(\text{Chl a}) - 70,16*(\text{Chl b})] / 220$, onde CTs são carotenoides totais.

2.1.4 Extração e quantificação de compostos fenólicos totais

Neste processo, as amostras de *Ulva ohnoi* (3g peso fresco, n = 3) foram maceradas em cadinho com N₂ líquido e então foram adicionados 5 mL de metanol 80% (v/v), incubado por 1h, protegido da luz, centrifugado (12.000 xg, 10 min) e por fim realizado a filtração sob vácuo para recuperação do sobrenadante. Os conteúdos totais de compostos fenólicos foram determinados pelo método colorimétrico de Folin-Ciocalteu ($\lambda = 750 \text{ nm}$), conforme descrito por Randhir *et al.* (2002). Para calcular o teores dos analitos foi utilizado curva-padrão de ácido gálico (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA – 100 - 1250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, $y = 0.0108x$, $r^2 = 0,999$). Os resultados, em triplicata, foram expressos em mg de equivalente ácido gálico (C₇H₆O₅) por g de massa seca.

2.1.5 Obtenção de ulvana

Para realizar a extração da ulvana foi utilizado a metodologia sugerida por Paulert *et al.* (2009) com modificações. As macroalgas frescas foram autoclavadas seguindo a proporção de 50 g de massa fresca para 300 ml de água destilada por 2 horas a 110 °C. Logo após, o sobrenadante foi incubado com três volumes de etanol P. A., por 48h a -20 °C. Depois foi filtrado e liofilizado por 24h a -54 °C e 0,160 mBar. Por fim, foi calculado o rendimento de ulvana usando a seguinte fórmula: rendimento de ulvana = $[(\text{ulvana seca (g)} / \text{macroalga fresca (g)}) \times 100] / \text{porcentagem de matéria seca}$. Para esse cálculo foi considerado a ulvana seca obtida da extração e a massa fresca usada no processo, após esse resultado foi dividido pela matéria seca da macroalga.

2.1.6 Quantificação de proteína

As análises de caracterização físico-química foram realizadas em triplicata de acordo com as metodologias descritas pela AOAC (1999): proteína por LECO método Dumas 990.03, fator de conversão 6,25 e o extrato etéreo por Soxhlet pelo método 920.39C.

2.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados foram calculados com média e desvio padrão. Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro-Wilk e Brown-Forsythe para comprovar os pré-requisitos de normalidade e homogeneidade de variâncias. Em seguida foi utilizada a análise de variância (ANOVA *one way*), seguido do teste de múltiplas comparações de Dunnet. Para a quantificação inicial e final da ulvana foi utilizado o Teste t de Student. Todos os testes estatísticos foram avaliados com um nível de significância de 5% e foram realizados no programa GraphPad Prism version 9.2.

3 RESULTADOS

3.1 QUALIDADE DA ÁGUA

Conforme os dados apresentados na Tabela 2, é possível observar que durante o experimento a temperatura variou em média 4 °C (25,5 °C a 29,9 °C), a salinidade variou entre 38‰ a 40‰, o oxigênio dissolvido alternou entre 6,4 mg L⁻¹ a 8,5 mg L⁻¹ e a irradiância de fótons de 3,4 μmol m⁻² s⁻¹ a 18,4 μmol de fótons m⁻² s⁻¹.

Tabela 2 - Temperatura (°C), salinidade (‰), oxigênio dissolvido - OD (mg L⁻¹) e lux: média, mínima (mín) e máxima (máx) do cultivo da *U. ohnoi* em sistema de bioflocos durante 28 dias.

Dia	Temperatura (°C)		Salinidade (‰)		OD (mg L ⁻¹)		Lux	
	Média	Mín-Máx	Média	Mín-Máx	Média	Mín-Máx	Média	Mín-Máx
7	27,5±0,39	26,3-29,4	40±0,00	39-40	7,2±0,21	6,4-7,0	851±10,4	712-948
14	27,9±1,60	26,0-29,8	39±0,52	39-40	7,7±0,43	7,1-8,5	631±124,3	306-1023
21	28,0±1,45	26,8-29,9	39±0,00	38-40	7,6±0,16	7,0-8,3	652±168,9	251-998
28	26,9±0,64	25,5-28,2	40±0,00	38-41	7,6±0,10	7,0-8,2	480±74,4	189-928

Os valores estão representados em média ± desvio padrão (n = 3).

3.2 DESEMPENHO ALGAL E CARACTERIZAÇÃO DA COMPOSIÇÃO BIOQUÍMICA

Na Tabela 3 estão apresentados os dados do crescimento das macroalgas durante os 28 dias de experimento. É possível verificar que a taxa média de crescimento (TC) variou de 0,78% dia⁻¹ a 1,49% dia⁻¹, enquanto a biomassa final acumulada antes das retiradas parciais semanais variou de 259g a 312g. O desempenho geral de crescimento foi de 1,15% dia⁻¹.

Tabela 3 - Biomassa produzida e crescimento semanal (% dia⁻¹) da *U. ohnoi* cultivada em sistema de bioflocos durante 28 dias.

<i>Ulva ohnoi</i>	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Biomassa Inicial (g)	240±0,0	-	-	-	-
Biomassa final acumulada (g)	-	259±9,3	312±3,9	287±24,9	300±37,0
TC (% dia ⁻¹)	-	1,33±0,5	1,49±1,1	1,00±0,4	0,78±0,4

Os dados são apresentados como média aritmética ± desvio padrão (n=3).

Na Tabela 4 pode-se observar que não houve diferenças significativas na concentração de compostos fenólicos, clorofilas a e b. Enquanto, os carotenoides diminuíram cerca 41,3% nas macroalgas após os 28 dias de cultivo em bioflocos (Tabela 4).

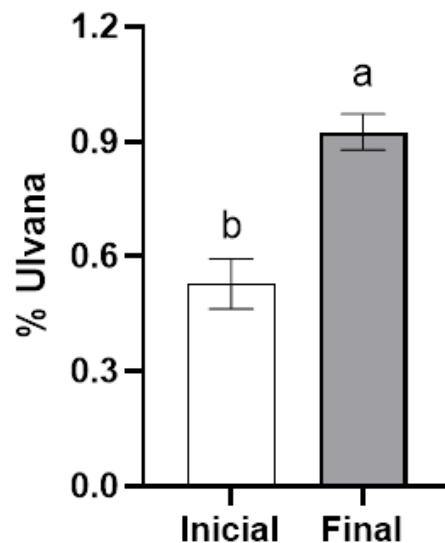
Tabela 4 - Concentração de compostos fenólicos, clorofila a, b e carotenoides da macroalga *U. ohnoi* cultivada por 28 dias em sistema de bioflocos.

	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
Compostos fenólicos (mg EAG.g-1 do peso seco)	0,24±0,01 ^a	0,33±0,2 ^a	0,27±0,1 ^a	0,19±0,03 ^a	0,19±0,01 ^a
Clorofila a (µg g-1 do peso seco)	78,55±4,4 ^a	63,45±13,6 ^a	53,45±36,4 ^a	71,80±47,3 ^a	80,60±28,2 ^a
Clorofila b (µg g-1 do peso seco)	70,15±3,6 ^a	57,70±14,1 ^a	62,85±49,4 ^a	80±44,4 ^a	72,40±25,5 ^a
Carotenoides (µg g-1 do peso seco)	32,20±2,8 ^a	29,25±3,6 ^a	19,55±11,4 ^b	24,50±1,4 ^a	18,90±1,5 ^b

Os valores representam a média ± intervalo de confiança (n = 3) e as letras minúsculas as diferenças significativas entre os dias de cultivo ($p < 0,05$)

As concentrações de ulvana apresentaram diferença significativa quando comparada a inicial (2,64±0,3%) e final (4,62±0,2%) (Figura 1).

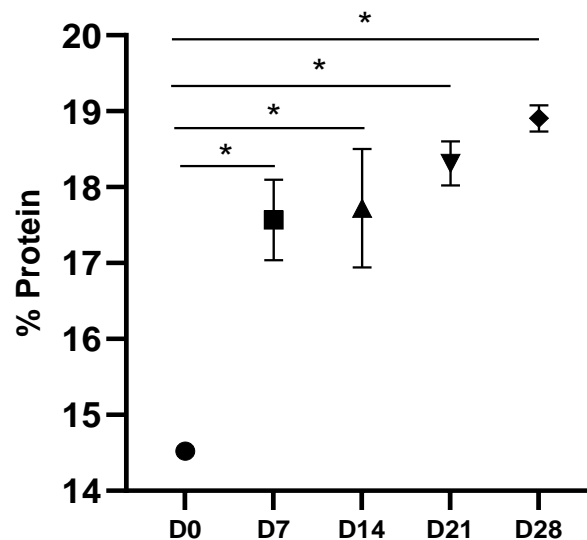
Figura 1 - Rendimento da ulvana no início e no final do cultivo da *U. ohnoi* em sistema de bioflocos durante 28 dias. Os dados retratam a média ± do intervalo de confiança (n= 3) e as letras minúsculas representam diferenças significativas no rendimento inicial e final ($p < 0,05$)



Fonte: elaborado pela autora

As concentrações de proteínas apresentaram diferenças estatísticas ao longo do período do experimento, com valor inicial de $14,52 \pm 0,1\%$ e final de $18,91 \pm 0,17\%$, representando um aumento de 30,2% (Figura 2).

Figura 2 - Concentração proteica da *U. ohnoi* cultivada em sistema de bioflocos durante 28 dias. Os dados retratam a média \pm do intervalo de confiança (n = 3) e *** representam as diferenças significativas entre o dia 0 comparado aos dias posteriores (p < 0,05).



Fonte: elaborado pela autora

4 DISCUSSÃO

Do mesmo modo que para os demais organismos aquáticos cultiváveis, os parâmetros de qualidade de água também são fundamentais para o bom desempenho das macroalgas no cultivo (CHOPIN *et al.*, 2001; BEN-ARI *et al.*, 2014). Na literatura, foram relatados valores para a qualidade da água próximos aos observados neste estudo para o cultivo de espécies de *Ulva* (MANTRI *et al.*, 2011; GE *et al.*, 2018). A salinidade se manteve no limite máximo reportado para o cultivo da espécie (ANGELL *et al.*, 2015). Os demais parâmetros de qualidade de água se mantiveram no padrão ideal definido para *Ulva ohnoi* (OHNO, 1988).

Além dos parâmetros de qualidade de água, um elemento crucial para o desenvolvimento das espécies de *Ulva* é a quantidade de nutrientes presente na água do cultivo (RODRIGUES, 2016). Embora o bioflocos seja rico em nutrientes (AVNIMELECH, 2012), os resultados de crescimento foram menores que os obtidos em outros estudos. Uma possível justificativa seria o estresse causado as macroalgas pela combinação de alguns fatores, sendo estes: a salinidade no limite máximo para

a espécie (ANGELL *et al.*, 2015); o uso de algas coletadas no meio natural; alta densidade utilizada; e, altas concentrações de nutriente, visto que diariamente era realizada a troca de 90% da água do cultivo. Martins *et al.*, (2020) utilizaram 25% de água de bioflocos e 75% de água marinha para cultivar *Ulva ohnoi* em diferentes densidades (2 e 4 g L⁻¹), ambas as densidades apresentaram crescimento superior ao encontrado no presente trabalho.

Neste trabalho, ao final do experimento houve uma diminuição nas concentrações de carotenoides totais, quando comparado ao início do experimento, já as concentrações de clorofila não apresentaram diferença significativa neste mesmo período. Entretanto, ambos se mantiveram dentro dos valores descritos na literatura.

Pontes (2018) encontrou concentrações de carotenoides que variam de 1,06±0,1 g⁻¹ para *U. fasciata* a 1,09±0,1 mg g⁻¹ para *U. flexuosa*, ambas cultivadas em sistema integrado com tilápia. Já Legarda *et al.* (2021), observaram em *Ulva fasciata*, integrada a tainha e camarão em bioflocos, as concentrações de carotenoides variando de 4,99±0,73 µg g⁻¹ a 16,46±3,41 µg g⁻¹ do peso fresco e clorofila variando de 72,15±12,07 (inicial) e 294,66±16,46 µg g⁻¹ (final) do peso fresco.

Foi comprovado que estes compostos variam dependendo da espécie de macroalga e de elementos físico/químicos de seu ambiente (PEÑA-RODRIGUES *et al.*, 2011; MOTA *et al.*, 2014). Autores observaram que a *Ulva pertusa* quando cultivada com variação de salinidade e alta concentração, apresenta uma redução no teor total de pigmentos (carotenoides e clorofila a e b) (Kakinuma, 2004). Assim sendo, a diferença de salinidade do meio natural para as utilizadas no estudo e a concentração no limite máximo aceitável para a espécie podem ter ocasionado estes resultados, uma vez que estas alterações afetam diretamente a atividade fotossintética das macroalgas, além disso fatores como reprodução e fase de crescimento também podem interferir na presença destes pigmentos (KAKINUMA, 2004; KAKINUMA *et al.*, 2006).

Os compostos fenólicos não apresentaram diferença significativa do início para o final do experimento. Na literatura é possível verificar que diferentes solventes são utilizados para extração de compostos de algas, onde dependendo do solvente utilizado os resultados variam para a extração desses compostos (TÓFOLI, 2017). Rodrigues (2013) testou diferentes solventes (MeOH, snEtOH e ppEtOH) para extração de compostos fenólicos da *U. lactuca* e concluiu que o extrato utilizando

metanol foi o que apresentou maiores concentrações ($27,5 \pm 0,8 \mu\text{g}/\text{mg}$ extrato seco). Neste estudo o solvente utilizado para as análises da *Ulva ohnoi* cultivada com água do bioflocos foi o metanol, e os resultados obtidos estão dentro dos valores reportado em outros estudos para o gênero *Ulva*. Raymundo *et al.* (2004), relataram a concentração de $6,35 \mu\text{g}/\text{mg}$ na alga *Ulva fasciata* utilizando metanol como solvente. Já Legarda *et al.* (2021) utilizaram o mesmo solvente (metanol) para quantificar os compostos fenólicos da *Ulva fasciata* cultivada em AMTI em sistema de bioflocos, e obtiveram valores que variaram de $0,32 \pm 0,05$ (inicial) e $0,19 \pm 0,03 \mu\text{g g}^{-1}$ (final) de peso seco.

A ulvana é um importante polissacarídeo solúvel em água, que possui diversas aplicações (SHAO *et al.*, 2013; SHAO *et al.*, 2014; RIZK *et al.*, 2016). Entre estas está o potencial para o tratamento preventivo de plantas, melhorando a resistência contra doenças (CLUZET *et al.*, 2004; ARAÚJO *et al.*, 2008; PAULERT *et al.*, 2009; BORSATO, DI PIERO E STADNIK, 2010) e a incorporação nas rações aquícolas, trazendo benefícios para o sistema imunológico e ganho de proteína para os animais cultivados. (SERRANO JR. & DECLARADOR, 2014; AKBARY *et al.*, 2018). No presente estudo, foi verificado que houve um aumento significativo na concentração de ulvana na espécie *Ulva ohnoi* após ser cultivada em sistema de bioflocos, aumentando 75% do valor inicial. Uma possível justificativa para este aumento é que a ulvana é um heteropolissacarídeo, encontrado na parede celular da *Ulva* e intimamente ligado a proteínas (LAHAYE & ROBIC, 2007; COLLÉN *et al.*, 2011; QI *et al.*, 2012; HAMED *et al.*, 2015), visto que no experimento também houve um aumento de proteínas na macroalga ao final do cultivo.

Ao fim dos 28 dias de cultivo a macroalga apresentou 30% a mais do valor inicial de proteína em sua composição, este resultado corrobora com relatos de que os compostos nitrogenados presentes no sistema de bioflocos são absorvidos pelas macroalgas, aumentando assim o seu teor de proteína (DUKE *et al.*, 1989; LEGARDA *et al.*, 2021).

5 CONCLUSÃO

Foi possível concluir com o presente estudo que a macroalga *Ulva ohnoi* aumentou significativamente seus teores de ulvana e proteína quando cultivada com água do sistema de bioflocos proveniente de um tanque com cultivo de camarões.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista os possíveis fatores que afetaram este experimento, seria interessante a realização de novos estudos que avaliem o desempenho da macroalga produzida em laboratório, ao invés de retirá-la do ambiente natural. Também é pertinente avaliar os possíveis efeitos da densidade populacional, concentrações de salinidade e as concentrações de nutrientes presentes na água para caracterização dos compostos da *Ulva ohnoi*. Além disso, visando os resultados obtidos no presente estudo, se torna interessante avaliar o efeito das altas concentrações de salinidade na produção do polissacarídeo ulvana.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M.H.; PEREIRA, R.; YARISH, C.; BUSCHMANN, A.H.; SOUSA-PINTO, I. IMTA with *Gracilaria vermiculophylla*: productivity and nutrient removal performance of the seaweed in a land-based pilot scale system. **Aquaculture**, 2011.
- AKBARY, P; AMINIKHOEI, Z. Effect of polysaccharides extracts of algae *Ulva rigida* on growth, antioxidant, immune response and resistance of shrimp, *Litopenaeus vannamei* against *Photobacterium damsela*. **Aquaculture Research**, v. 49, n. 7, p. 2503-2510, 2018.
- ALHAFEDH, Y.S.; ALAM, A.; BUSCHMANN, A.H. Bioremediation potential, growth and biomass yield of the green seaweed, *Ulva lactuca* in an integrated marine aquaculture system at the Red Sea coast of Saudi Arabia at different stocking densities and effluent flow rates. **Rev. Aquac.**, 2015.
- ANGELL, A.R., et al. Indirect and direct effects of salinity on the quantity and quality of total amino acids in *Ulva ohnoi* (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, v. 51, n. 3, p. 536-545, 2015.
- AOAC, Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16th edn.OMA, Arlington, 1999.
- ARAÚJO, L.; STADNIK, MARCIEL J.; BORSATO, LEANDRO C.; VALDEBENITO-SANHUEZA, ROSA M. Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 2, p.148-152, 2008.
- AVNIMELECH, Y. Biofloc Technology – A Practical Guide Book, second ed. **The World Aquaculture Society**, Baton Rouge, Louisiana. United States, p. 283. 2012.
- BEN-ARI, T.; NEORI, A.; BEN-EZRA, D.; SHAULI, L.; ODINTSOV, V.; SHPIGEL, M. Management of *Ulva lactuca* as a biofilter of mariculture effluents in IMTA system. **Aquaculture**, v.434, p.493-498, 2014.
- BOROWITZKA, M.A. High-value products from microalgae - their development and commercialisation. **J. Appl. Phycol.**, 2013.
- BORSATO, L. C.; DI PIERO, R. M.; STADNIK, M. J. Mecanismos de defesa eliciados por ulvana contra *Uromyces appendiculatus* em três cultivares de feijoeiro. **Tropical Plant Pathology**, v. 35, n. 5, p. 318-322, 2010.
- BRITO, L. O. ET AL. Water quality, phytoplankton composition and growth of *Litopenaeus vannamei* (Boone) in an integrated biofloc system with *Gracilaria birdiae* (Greville) and *Gracilaria domingensis* (Kützinger). **Aquaculture International**, v. 22, p. 1649-1664, 2014.
- CHAGAS, A. C. **Uso potencial da macroalga *Ulva* spp. Integrada ao cultivo de camarões mantidos em sistema de bioflocos**. Dissertação de Mestrado – Programa de Pós-graduação em Aquicultura. Universidade Federal do Rio Grande – UFRG. 2021.

CHIRAPART, A., LEWMANOMONT, K. Growth and production of Thai agarophyte cultured in natural pond using the effluent seawater from shrimp culture. **Hydrobiologia** **512**, 117–126. 2004.

CHOPIN, THIERRY ET AL. Integrating seaweeds into marine aquaculture systems: a key toward sustainability. **Journal Of Phycology**, v. 37, n. 6, p.975-986, dez. 2001.

CLUZET, S.; TORREGROSA, C.; JACQUET, C.; LAFITTE, C.; FOURNIER, J.; MERCIER, L.; SALAMAGNE, S.; BRIAND, X.; ESQUERRÉ-TUGAYÉ, M.-T.; DUMAS, B. Gene expression profiling and protection of *Medicago truncatula* against a fungal infection in response to an elicitor from green algae *Ulva* spp. **Plant Cell and Environment**, v. 27, p. 917-928, 2004.

COLLÉN, P.N.; SASSI, JEAN-FRANÇOIS; ROGNIAUX, HÉLÈNE; MARFAING, HÉLÈNE; HELBERT, GUILHERME. ulvan lyases isolated from the flavobacterium *Persicivirga ulvanivorans* are the first members of a new polysaccharide lyase family. **Journal of Biology Chemistry**, v. 286, p. 42063-42071, 2011.

CORMACI, M., FURNARI, G., & ALONGI, G. Flora marina bentonica del Mediterraneo: Chlorophyta. **Bollettino dell'Accademia Gioenia Di Scienze Naturali**, 47(377), 11–436. 2014.

DUKE, C.S., LITAKER, W., RAMUS, J. Effects of temperature, nitrogen supply, and tissue nitrogen on ammonium uptake rates of the Chlorophyte seaweeds *Ulva curvata* and *Codium decorticatum*. **Journal of Phycology**, v. 25, n. 1, p. 113-120, 1989.

FAO. **Relatório da FAO sobre o Estado Mundial da Pesca e Aquicultura (SOFIA) observa o crescimento impulsionado pela aquicultura**. Roma. 2022.

GE, H.; NI, Q.; LI, J.; CHEN, Z.; ZHAO, F. Integration of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and green seaweed (*Ulva prolifera*) in minimum water exchange aquaculture system. **Journal of Applied Phycology**, 31: 1425-1432. 2018.

GUARATINI, T.; CARDOZO, K. H. M.; PINTO, E.; COLEPICOLO, P. Comparison of Diode Array and Electrochemical Detection in the C30 Reverse Phase HPLC Analysis of Algae Carotenoids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 20, n. 9, p. 1609-1616, 2009.

HAMED, I.; ÖZOGUL, FATIH; ÖZOGUL, YESIM; REGENSTEIN, JOE M. Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, v. 14, n. 4, p. 446-465, 2015.

HISCOX, J.D.; ISRAELSTAM, G.F. A Method for extraction of chlorophyll from leaf tissue without maceration. **Journal of Botanic**, v. 57, n. 12, p. 1332-1334, 1979.

HOANG, T.H.; QIN, JIAN G.; STONE, DAVID AJ; HARRIS, JAMES O. Colour changes of greenlip abalone (*Haliotis laevigata* Donovan) fed fresh macroalgae and

dried algal supplement. **Aquaculture**, v. 456, p. 16-23, 2016.

IHSAN, YUDI NURUL. **Nutrient Fluxes in Multitrophic Aquaculture Systems**. Dissertação (Mestrado) - Institut Für Tierzucht Und Tierhaltung de Agrar – Und Ernährungswissenschaftlichen Fakultät Der Christian-albrechts-universität Zu Kiel, Bandung, 2012.

KAKINUMA, M. Salinity stress responses of a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta). **Fish Science**, v. 70, n. 6, p. 1177-1179, 2004.

KAKINUMA, M.; COURY, DA; KUNO, Y.; ITOH, S.; KOZAWA, Y.; INAGAKI, E.; YOSHIURA, Y.; AMANO, H. Physiological and biochemical responses to thermal and salinity stresses in a sterile mutant of *Ulva pertusa* (Ulvales, Chlorophyta). **Marine Biology**, v. 149, p. 97-106, 2006..

KANG, Y.H.; PARK, S.R.; CHUNG, I.K. Biofiltration efficiency and biochemical composition of three seaweed species cultivated in a fish-seaweed integrated culture. **Algae**, 2011.

KANG, JEONGEUN; JISUN, PARQUE; SEO, JUNG-KIL; CHOI, WONHYUNG; CHOI, SOO CHEOL; KIM, JU-HYOUNG; LEE, IN-AH. Intestinal anti-inflammatory activity of *Ulva ohnoi* oil in DSS induced experimental mouse model. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-10, 2021.

KONG, F., MAO, Y., CUI, F., ZHANG, X., & GAO, Z. Morphology and molecular identification of *Ulva* forming green tides in Qingdao China. **Journal of Ocean University of China**, 10: 73 79. 2011.

KUMAR, K. S.; GANESAN, K.; SELVARAJ, K.; RAO, P.S. Studies on the functional properties of protein concentrate of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty—An edible seaweed. **Food chemistry**, v.153, p.353-360. 2014.

LAHAYE, M.; ROBIC, A. Structure and function properties of ulvan, a polysaccharide from green seaweeds. **Biomacromolecules**, v. 8, n. 6, p. 1765-1774, 2007.

LEGARDA, ESMERALDA CHAMORRO. **Aquicultura Multitrófica Integrada de camarão, tainha e macroalga em sistema de bioflocos aplicando conceitos de economia circular**. Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, 2020.

LEGARDA, E. C.; LORENZO, M. A.; VIEIRA, F. N. Aquicultura multitrófica integrada e economia circular aplicados ao sistema de bioflocos. **Aquaculture Brasil**. Ed. 23. 2021.

MAGNUSSON, MARIE; GLASSON, CHRISTOPHER; VUCKO, MATTHEW J.; ANGELL, ALEX; NEOH, TZE LOON; NYS, ROCKY DE. Enrichment processes for the production of high-protein feed from the green seaweed *Ulva ohnoi*. **Algal Research**, v. 41, p. 101555, 2019.

MANTRI, V.A.; SINGH, R.P.; BIJO, A.J.; KUMARI, P.; REDDY, C.R.K.; JHA, B. Differential response of varying salinity and temperature on zoospore induction, regeneration and daily growth rate in *Ulva fasciata* (Chlorophyta, Ulvales). **Journal of Applied Phycology**, 23: 243-250. 2011.

MARINHO-SORIANO, E. & CARNEIRO, M. A. A. Macroalgas marinhas: Biologia, ecologia e importância econômica. In **Ciências do mar: Dos oceanos do mundo ao Nordeste do Brasil**, 90-119. 2021.

MARTINS, M.A.; SILVA, VÍTOR FERNANDES DA; TARAPUEZ, PATRÍCIO RENÉ; HAYASHI, LEILA; VIEIRA, FELIPE DO NASCIMENTO. Cultivation of the seaweed *Ulva* spp. with effluent from a shrimp biofloc rearing system: Different species and stocking density. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 3, p.602, 2020.

MASAKIYO, Y.; SHIMADA, S. Species diversity of the genus *Ulva* (Ulvophyceae, Chlorophyta) in Japanese waters, with special reference to *Ulva tepida* Masakiyo et S.Shimada sp. nov. **Bulletin of the National Science Museum Series B (Botany)**. 40(1): 1-13. 2014.

MICHALAK, I.; CHOJNACKA, K. Algae as production systems of bioactive compounds. **Engineering in Life Sciences**. 2015.

MOTA, N. S.; FIGUEIREDO, T. V. B.; MACHADO, B. A. S.; DRUZIAN, J. I. Macroalgas marinhas comestíveis: tendências tecnológicas. **Cadernos de Prospecção**, [S.l.], v. 7, n. 2, p. 118, 2014.

NAKAMURA, MASAYA; KUMAGAI, NAOKI H.; TAMAOKI, MASANORI; ARITA, KOICHI; ISHII, YUICHI; NAKAJIMA, NOBUYOSHI; YABE, TOHRU. Photosynthesis and growth of *Ulva ohnoi* and *Ulva pertusa* (Ulvophyceae) under high light and high temperature conditions, and implications for green tide in Japan. **Phycological research**, v. 68, n. 2, p. 152-160, 2020.

NEORI, A, COHEN, I, GORDIN, H. *Ulva lactuca* biofilters for marine fishpond effluents II. Growth rate, yield and C:N ratio. **Bot. Mar.** 34, 483–489. 1991.

NHINH, DOAN THI; PAUL, NICHOLAS; RECHNER, SIMON; VAN, KIM VAN. Nitrogen waste in the effluent from an intensive shrimp farm and the removal effectiveness of a wastewater treatment system integrating seaweed production. **Vietnam J. Agri. Sci.** Vol. 15, No. 9: 1136-1148, 2017.

OHNO, M. Seasonal changes of the growth of green algae, *Ulva* sp. in Tosa Bay, Southern. **Japanese Marine fouling**, v. 7, n. 1-2, p.13-17, 1988.

PAULERT, R. TALAMINI, V.; CASSOLATO, JEF; DUARTE, MER; NOSEDA, MD; SMANIA JR, A.; STADNIK, MJ. Effects of sulfated polysaccharide and alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata* on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 116, n. 6, p. 263-270, 2009.

PENA-RODRÍGUEZ, A., MAWHINNEY, T.P., RICQUE-MARIE, D., CRUZ-SU´AREZ,

E. Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. **FoodChem.** 129. 2011.

PESO-ECHARRI, PATRICIA ET AL. Polisacáridos de algas como ingredientes funcionales en acuicultura marina: alginato, carragenato y ulvano. **Rev. biol. mar. oceanogr.**, v. 47, n. 3, p.373-381, 2012.

PIRES, C. M. **Análise do potencial de fertilização da macroalga *Kappaphycus alvarezii* com efluentes oriundos da carcinicultura de *Litopenaeus vannamei* em sistema biofloco.** 24 p. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

PONTES, M. D. **Macroalgas marinhas como biofiltro em sistemas de aquicultura multitrófica integrada e como ingrediente em dietas para juvenis de carapeba *Eugerres brasiliensis* e de tilápia *Oreochromis niloticus*.** Tese (Doutorado em Zootecnia) - Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2018.

PONTES, MARCELO DUARTE. **Seleção de macroalgas para utilização como biofiltro em sistemas multitróficos integrados: composição e eficiência biofiltradora.** Tese (Doutorado em Zootecnia). Instituto de Zootecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2018.

QI, H.; LIU, XIAOLEI; ZHANG, JIN BAO; DUAN, YU; WANG, XIAO LAN; ZHANG, QUANBIN. Synthesis and antihyperlipidemic activity of acetylated derivative of ulvan from *Ulva pertusa*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 50, p. 270-272, 2012.

RANDHIR, R.; SHETTY, P.; SHETTY, K. L-dopa and total phenolic stimulation in darkgerminated fava bean in response to peptide and phytochemical elicitors. **Process Biochemistry**, v. 37, n. 11, p. 1247–1256, 2002.

RAYMUNDO, M.S., HORTA, P., FETT, R., Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). **Rev. Bras. Cienc. Farm.**40, 495–503. 2004.

RIZK, M. Z.; ALY, H. F.; MATLOUB, A. A.; The anti-hypercholesterolemic effect of ulvan polysaccharide extracted from the green alga *Ulva fasciata* on aged hypercholesterolemic rats. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. 3, p. 165-176, 2016.

RODRIGUES, F. A. A. **Otimização das condições de cultivo de *Ulva lactuca* (Chlorophyta, Chlorophyceae) para alimentação de *Haliotis tuberculata*.** Dissertação de mestrado. Universidade dos Açores. 2016.

RODRIGUES, JOANA MIGUEL. **Avaliação do valor nutricional e de propriedades antioxidantes das macroalgas *Chaetomorpha linum*, *Ulva lactuca*, *Gracilaria vermiculophylla* e *Fucus vesiculosus*.** Mestrado em Engenharia Alimentar – Instituto Politécnico de Coimbra Escola Superior Agrária. Coimbra, 2013.

- SANTOS, FÁBIO DE JESUS CARMO. **Macroalgas verdes produzidas em aquacultura na região Algarvia: potencial terapêutico/propriedades biológicas.** Dissertação de mestrado, Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade do Algarve, 2017.
- SATOH, K., NAKAGAWA, H., & KASAHARA, S. Effect of *Ulva* meal supplementation on disease resistance of red sea bream. **Nippon Suisan Gakkaishi**, 53, 1115 e 1120.1987.
- SERRANO JR, A. E.; DECLARADOR, R. S. Growth performance of black tiger shrimp *Penaeus monodon* larvae fed diets supplemented with ulvan. **Animal Biology & Animal Husbandry**, v. 6, n. 2, p. 173-180, 2014.
- SHAO P.; CHEN M.; PEI Y.; SUN P. In vitro antioxidant activities of different sulfated polysaccharides from chlorophyten seaweeds *Ulva fasciata*. **International journal of biological macromolecules**, v. 59, p. 295-300, 2013
- SHAO, P.; QIN, M.; HAN, L.; SUN, P. Rheology and characteristics of sulfated polysaccharides from chlorophyten seaweeds *Ulva fasciata*. **Carbohydrate polymers**, v. 113, p. 365-372, 2014.
- SHPIGEL, M.; SHAULI, L.; ODINTSOV, V.; BEN-EZRA, D.; NEORI, A.; GUTTMAN, L. The sea urchin, *Paracentrotus lividus*, in an integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) system with fish (*Sparus aurata*) and seaweed (*Ulva lactuca*): nitrogen partitioning and proportional configurations. **Aquaculture**, 2018.
- TÓFOLI, RODOLFO JOSÉ. **Avaliação de biocompostos e composição mineral de extratos provenientes de duas macroalgas lóxicas do estado de São Paulo.** Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista. 2017.
- TROELL, M.; HALLING, C; NEORI, A; CHOPIN, T; BUSCHMANN, AH; KAUTSKY, N; YARISH, C. Integrated mariculture: asking the right questions. **Aquaculture**, v. 226, n. 1-4, p. 69-90, 2003.
- TROELL M, JOYCE A, CHOPIN T, NEORI A, BUSCHMANN AH, FANG JG. Ecological engineering in aquaculture - potential for integrated multi-trophic aquaculture (IMTA) in marine offshore systems. **Aquaculture**. 2009.
- VAN WYK, P., SCARPA, J. Water Quality and Management. In: Van Wyk, P., et al. (Eds.), Farming Marine Shrimp in Recirculating Freshwater Systems. **Harbor Branch Oceanographic Institution**, p. 128-138, 1999.
- WASIELESKY, W.; KRUMMENAUE, D. Cultivo de camarões em sistema de bioflocos: realidades e perspectivas. **Revista ABCC**, v. 15, n. 2, p. 16-26, 2013.
- WELLBURN, A.R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal Plant Physiology**, p. 307-313, 1994.

YONG, WILSON THAU LYM ET AL. Perfil da produção de lectina em *Kappaphycus alvarezii* cultivado de forma selvagem e in vitro. **Journal Science Technology**, v. 2, p. 125-132, 2013.

YONG, Y.S., YONG, W.T.L., ANTON, A. Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, p. 1831-1834, 2013.

ZHANG, T. SHEN, ZONGGEN; XU, PU; ZHU, JIANYI; LU, QINQIN; SHEN, YI; WANG, YUE; YAO, CHUNYAN; LI, JIAFU; WANG, YUNXIA; JIANG, HONGXIA. Analysis of photosynthetic pigments and chlorophyll fluorescence characteristics of different strains of *Porphyra yezoensis*. **Journal of applied phycology**, v. 24, n. 4, p. 881-886, 2012.

ZANOLLA, MARIANELA; CARMONA, RAQUEL; KAWAI, HIROSHI; STENGEL, DAGMAR B.; ALTAMIRANO, MARIA. Role of thermal photosynthetic plasticity in the dispersal and settlement of two global green tide formers: *Ulva pertusa* and *U. ohnoi*. **Marine Biology**, v. 166, n. 10, p. 123, 2019.